

## 수영 (*Rumex acetosa* L.) 암·수 체세포클론에서 염색체 변이

김수영 · 이미경 · 김동순 · 방재욱\*  
충남대학교 자연과학대학 생물학과

### Chromosomal Variation in Female and Male Somaclones of *Rumex acetosa* L.

KIM, Soo-Young · LEE, Mi-Kyung · JIN, Dong-Chun · BANG, Jae-Wook\*

Department of Biology, College of Natural Sciences, Chungnam National University, Taejeon, 305-764, Korea

**ABSTRACT** Chromosomal variation was investigated in the female and male somaclones regenerated from the leaf segment culture of *Rumex acetosa* L. Difference in phenotype depending on the sexuality was not observed. In female somaclones, 21 among 25 somaclones carried the same chromosome complements ( $2n=14$ ) with wildtype and others were tetraploids ( $2n=28$ ). Considerable chromosomal variation was found in male somaclones. Only 4 among 20 somaclones carried normal chromosome number ( $2n=15$ ) and 13 somaclones were aneuploids.

**Key words:** Aneuploid, culture, leaf segment phenotype, tetraploid

#### 서 론

수영 (*Rumex acetosa* L.)은 소리쟁이속에 속하는 자웅이체 식물로서 자연집단 내에 암 개체가 수 개체보다 수적으로 우세하게 분포하고 있으며, 암·수 개체의 외형적인 차이는 꽃피는 시기를 제외하고는 뚜렷한 차이를 보이지 않는다 (Lee 1985).

수영의 세포유전학적 연구에서 염색체 조성이 암 개체는  $2n=14$ , 수 개체는  $2n=15$ 로 밝혀진 (Kihara and Ono 1923) 이래, 암 개체의 염색체 조성은 6쌍의 상염색체와 그에 비해 크기가 큰 한 쌍의 X염색체로 이루어져 있고, 수 개체는 상염색체의 조성은 암 개체와 동일하나 성염색체 조성은 짝이 이루어지지 않는 X, Y<sub>1</sub> 및 Y<sub>2</sub>로 구분되어 암·수 사이에 상이한 성염색체 조성을 나타내는 것으로 보고되어 있다 (Parker and Wilby 1989; Lee et al. 1991). 또한, 수영의 성 결정에서 두 개의 Y염색체는 활성이 없고, 상염색체에 대한 X염색체의 비율로 성이 결정되는 것으로 보고되어 있다 (Ono 1935).

조직배양 과정에서는 많은 유전적 변이가 일어나며, 재분화 식물체에 그 변이가 전해지는데, 배양세포에서 유전적인 변이가 처음으로 보고 (Murashige and Nakano 1967)된 이후 배양 세포에서 나타나는 형태적인 특성과 생화학적인 특성의 변이 및 염색체의 수적, 구조적인 변이에 관한 연구가 많이 이루어져 왔다 (Zheng et al. 1987; Dahleen and Eizenga 1990). 이처럼 조직배양 과정 중에 나타나는 모든 유전적 변이는 체세포클론 변이 (Larkin and Scowcroft 1981)라 부르며, 체세포클론 변이가 유용한 형질로 나타나는 경우에 식물 자원의 개발에 유용하게 이용될 수 있다 (Secor and Shepard 1981).

체세포클론 변이 중 염색체의 수적, 구조적 변이는 담배 (Murashige and Nakano 1967; Bayliss 1980; Kim and Kim 1987; Woo et al. 1990), 밀 (Karp and Maddock 1984; Davis et al. 1986; Karp et al. 1987; Bang 1990), 옥수수 (McCoy and Phillips 1982), 호밀 (Asami et al. 1976; Linacero and Vazquez 1986) 등 여러 식물에서 보고되어 왔다.

수영의 조직 배양에 관한 연구로는 경단조직 배양을 통한 식물체의 재분화가 보고되었고 (Culafic et al. 1987), 잎 절편의 배양을 통한 식물체의 재분화와 캘러스의 염색체 관찰에서 수 개체에서는  $2n=14$ 로 안정적이지만, 암 개체에서는

\*Corresponding author. Tel 042-821-5497 Fax 042-822-9690  
E-mail bangjw@cnu.ac.kr

2n=39~79개로 다양하게 나타나는 것으로 보고 (Lee and Bang 1991)된 바 있지만 암·수 재분화 체세포클론에서의 염색체 변이에 관한 연구는 이루어진 바 없다.

본 연구는 수영의 조직배양을 통하여 얻은 재분화 식물체를 대상으로 암·수의 성에 따른 상염색체와 성염색체의 안정성을 비교하여 보고자 수행되었다.

## 재료 및 방법

### 식물재료

염색체 분석을 통하여 암·수가 확인된 수영의 잎 절편 배양에서 얻은 재분화 식물체를 재료로 사용하였다.

### 잎 절편의 조직배양

조직배양은 암·수가 확인된 개체를 대상으로, 생장이 왕성한 어린 잎을 이용하였다. 잎을 흐르는 물에 2~3회 수세한 후, 1% sodium hypochlorite 용액에서 10분간 멸균하고, 진공 상태에서 1분간 탈포한 다음 멸균 증류수로 3회 이상 수세하여 배양재료로 사용하였다. 캘러스를 유도하기 위하여 잎 조직을 5×5 mm 정도의 크기로 잘라 2,4-D 5 mg/L, kinetin 0.1 mg/L가 함유된 MS 배지 (Murashige and Skoog 1962)에 치상하였다. 캘러스 배지에 치상한 잎 조직은 4일 후에 BAP 2.2 mg/L, IAA 0.2 mg/L가 함유된 신초 유도 배지로 옮겨 신초 발생 후, 발근 배지로 옮겨 주었다 (Table 1).

배양은 암 조건과 명 조건으로 나누어 수행하였으며, 암 조건은 배양기 (25±1°C)에서 유지시켰고, 명 조건은 16시간 (4,000 Lux)의 광 조건이 구비된 배양실 (25±1°C)에서 유지하였다. 발근된 개체는 질석이 든 화분에 옮겨 심고, 습도를 유지시켜 주면서 순화시킨 다음, 순화된 개체는 유기물이 많이 포함되지 않은 토양에 심어 환경에 완전히 적응시키면서 염색체 분석을 수행하였다.

### 체세포클론에서의 염색체 관찰

염색체 관찰을 위해 근단을 1-bromonaphthalene 포화 수

**Table 1.** Hormonal concentration in the MS media for callus, shoot, and root development.

Callus induction	medium
2,4-D	5.0 mg/L
Kinetin	0.1 mg/L
Shoot induction	medium
BAP	2.2 mg/L
IAA	0.2 mg/L
Root induction	medium
IBA	2.0 mg/L

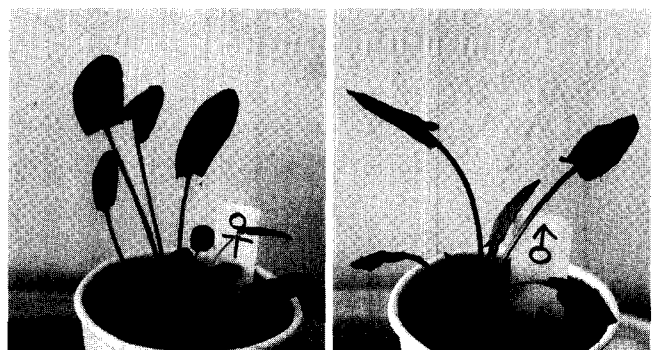
용액에서 5시간 처리 후, acetic acid-alcohol (1:3, v/v)에 고정하여 냉장고 (4°C)에 보관하면서 재료로 사용하였다. 고정된 근단은 1N HCl 용액 (60°C)에서 5분간 연화시킨 다음, Feulgen 용액과 aceto-carmin으로 염색하여 압착법으로 표본을 제작하였으며, 분열이 왕성한 염색체 상의 사진을 촬영하여 분석에 이용하였다.

## 결과 및 고찰

잎 절편을 캘러스 유도배지에 치상하여 4일간 배양한 후에 신초 유도배지에 옮겨 10일 정도 배양하면 캘러스가 유도되기 시작하였으며, 수 개체가 암 개체에 비하여 캘러스의 생성이 빠르고 왕성하였다. 암상태에서 배양한 절편에서 캘러스 형성은 명 배양에 비해 왕성하였으며, 캘러스 유도율은 90%였다. 배양 3주 후 신초 유도배지에 옮겨준 캘러스에서 신초가 발생하였다. 암 개체에 비해 수 개체에서 신초 유도가 높게 나타났는데, 이는 재분화 과정이 성에 따라 다르다는 사실을 간접적으로 보여주는 것이다 (Culafic et al. 1987; Lee and Bang 1991).

염색체 관찰은 배양을 통하여 얻은 체세포클론 중 암 식물 (Figure 1A) 25개체와 수 식물 (Figure 1B) 20개체를 대상으로 수행하였다 (Table 2).

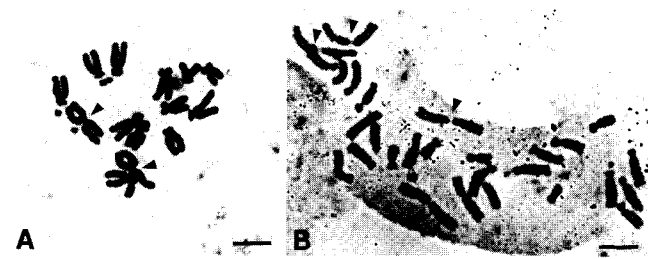
관찰한 25개체의 암 개체 체세포클론 중 21개체가 2n=14 (Figure 2A)로 야생형과 같은 염색체 구성을 보였고, 4개체가



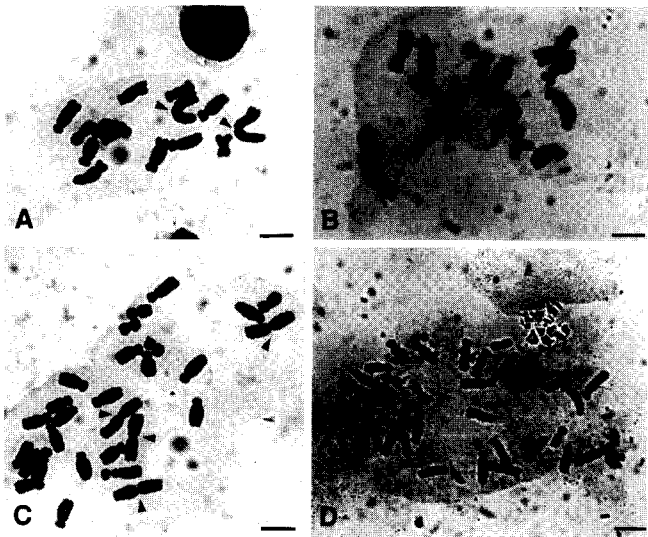
**Figure 1.** Female (A) and male (B) somaclones of *Rumex acetosa* L.

**Table 2.** Variation of chromosome numbers in the somaclones of *Rumex acetosa* L.

Sex	Chromosome numbers in somaclones	Number of plants investigated
Female	14	21
(2n=14)	28	4
Total		25
	14	8
Male	15	4
(2n=15)	28	5
	30	3
Total		20



**Figure 2.** Chromosome complements of female somaclones of *Rumex acetosa* L. A,  $2n=14$ ; B,  $2n=28$ . Arrows indicate X-chromosomes.



**Figure 3.** Chromosome complements of male somaclones of *Rumex acetosa* L. A,  $2n=14$ ; B,  $2n=15$ ; C,  $2n=28$ ; D,  $2n=30$ . Arrows indicate sex chromosomes and d's are dicentric chromosomes.

$2n=28$  (Figure 2B)로 염색체 배가가 일어난 4배체로 관찰되어 배수화 이외의 염색체 변이는 볼 수 없었다. 그에 비하여 수 개체의 체세포클론에서는 암 개체에 비하여 염색체 조성이  $2n=14, 15, 28, 30$ 으로 다양하게 관찰되는 것이 특징이었다. 관찰한 20개체의 수 개체의 체세포클론 중 8개체가  $2n=14$  (Figure 3A)로 가장 많이 출현하였으며, 성염색체 하나가 소실되어 나타나는 특징을 보였다. 야생과 동일한 염색체 수를 가진  $2n=15$ 의 체세포클론은 4개체 (20%)였으며, 성염색체를 한 개만 지닌 식물 (Figure 3B)도 관찰되었다. 염색체의 배가가 일어난  $2n=28$  (Figure 3C)의 식물은 5개체 (25%)가 관찰되었는데, 성염색체의 다양성을 관찰할 수 없었다.  $2n=30$ 의 배수체에서도 암 개체에서와는 달리 성염색체가 정확한 배가 현상은 볼 수 없었으며, 협착 부위를 두 개 지닌 dicentric 염색체도 관찰되었다 (Figure 3D).

조직 배양시의 염색체 변이는 배수화 현상이 일반적이며, 배양기간이 경과할수록 심해지는데 담배의 경우 약 배양시 배양기간에 따라 배수성이 변하는 것으로 보고 (Bayliss 1980)되어 있다. 배수화 현상은 핵내 재복제와 핵내 체세포 분열 현상에 의해 생겨난 것이며, 이수체는 체세포 분열시 염색체의 lagging과 불분리 현상에 의해 나타난다 (Ramulu et

al. 1985). 감자의 경우 재분화 식물의 50~70%가 정상적인 4배체의 염색체 조성을 지니며, 10~20%는 이수체, 20~30%는 8배체와 8배체의 이수체로 나타나, 염색체의 수적인 변이가 나타난다는 것이 밝혀졌다 (Creissen and Karp 1985; Fish and Karp 1986). 수영의 경우 암 · 수의 체세포클론에서 야생형과 같은 염색체 조성을 지닌 개체가 암 식물의 경우 84%, 수 식물의 경우에는 20%로 암 개체가 훨씬 높은 안정성을 보이는 것이 특징이었다. 수 식물의 체세포클론에서는 상염색체의 수가 다양하게 나타날 뿐 아니라 성염색체 수도 일정하지 않게 나타났는데, 이러한 다형현상은 홀수의 X 염색체 ( $2n=12A+XY_1Y_2$ )를 가지고 있는 수 개체가 암 개체에 비하여 배양과정의 환경요인에 의한 스트레스에 따른 비정상적인 세포분열의 정도가 더 높아 염색체 수의 불안정화가 야기되어 나타나는 것으로 사료된다 (Karp 1988).

## 적 요

성염색체의 조성이 다른 수영 (*Rumex acetosa* L.) 암 · 수 개체의 잎 절편 배양을 통하여 얻은 체세포클론을 대상으로 염색체 분석을 수행하여 다음과 같은 결과를 얻었다. 암 개체의 경우 조사된 25개체 중 21개체 (84%)가 야생형과 같은 염색체 조성 ( $2n=14$ )을 보였으며, 야생형에서는 관찰되지 않는 4배체 식물이 4개체 (16%)가 관찰되었다. 그에 비하여 수 개체에서는 20개체 중 4개체 (20%)만이 정상의 염색체 조성을 보여 성에 따른 체세포클론 변이에서의 차이를 보였다. 수 개체에서는  $2n=14, 28$  등의 이수체가 관찰되었으며, 4배체 ( $2n=30$ )로 나타난 체세포클론에서도 성염색체의 뚜렷한 배가 현상이 관찰되지 않았다.

## 인용문헌

- Asami H, Inomata N, Okamoto M (1976) Chromosome variation in callus cells derived from *Secale cereale* L. with and without B-chromosome. *Japan J Genetics* 51:297-303
- Bang JW (1990) Chromosome variation in suspension cells derived from cultured immature embryo of *Triticum* spp. *Korean J Bot* 33:189-196
- Bayliss MW (1980) Chromosomal variation in plant tissue culture. In: IK Vasil Ed, *Perspective in Plant Cell and Tissue Culture*, pp 113-144. Int Rev Cytol Suppl 11A. Academic Press, New York
- Creissen GP, Karp A (1985) Karyotypic changes in potato plants regenerated from protoplasts. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 4:171-182
- Culafic L, Samofalova A, Neskovic M (1987) *In vitro* organogenesis in two dioecious species, *Rumex acetosella* L and *R acetosa* L (polygonaceae). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 11:125-131

- Dahleen LS, Eizenga GC** (1990) Meiotic and isozymic characterization of plant regenerated from euploid and selfed monosomic tall fescue embryos. *Theor Appl Genet* **79**:39-44
- Davis PA, Pallotta MA, Ryan SA, Scowcroft WR, Larkin PJ** (1986) Somaclonal variation in wheat : Genetic and cytogenetic characterization of alcohol dehydrogenase 1 mutants. *Theor Appl Genet* **72**:644-653
- Fish N, Karp A** (1986) Improvements in regeneration from protoplasts of potato and studies on chromosome stability I. The effect of initial culture media. *Theor Appl Genet* **72**:405-412
- Karp A** (1988) Origins and causes of chromosome instability in plant tissue culture and regeneration. Kew Chromosome Conference III. HMSO: 185-191
- Karp A, Maddock SE** (1984) Chromosome variation in wheat plants regenerated from cultured immature embryos. *Theor Appl Genet* **67**:249-255
- Karp A, Wu QS, Steele SH, Jones MGK** (1987) Chromosome variation in dividing protoplasts and cell suspension of wheat. *Theor Appl Genet* **74**:140-146
- Kihara H, Ono T** (1923) Cytological studies on *Rumex L.* I. Chromosomes of *Rumex acetosa L.* *Bot Mag Tokyo* **37**:84-90
- Kim SG, DJ Kim DJ** (1987) Chromosomal and phenotypic variation in plants regenerated from tobacco protoclone calluses. *Korean J Genet* **9**:189-194
- Larkin PJ, WR Scowcroft** (1981) Somaclonal variation a novel source of variability from cell culture for plant improvement. *Theor Appl Genet* **60**:197-214
- Lee CB** (1985) Illustrated Flora of Korea. Hyangmoonsa, Seoul, p 297
- Lee MK, Bang JW** (1991) Plant regeneration and somaclonal variation from the leaf segment cultures of *Rumex acetosa L.* *Korean J Plant Tissue Culture* **18**:377-382
- Lee MK, Choi HW, Bang JW** (1991) Karyotype and chromosomal polymorphism in *Rumex acetosa L.* *Korea J Genetics* **13**:271-280
- Linacero R, Vazquez AM** (1986) Somaclonal variation in plants regenerated from embryo callus in rye (*Secale cereale L.*). W Horn, CJ Jansen, W Odenbach and O Schieder, Eds. *In : Genetic manipulation in plant breeding.* pp 479-481. Walter de Gruyter und Co, Berlin
- McCoy JW, Phillips RL** (1982) Chromosome stability in maize (*Zea mays*) tissue cultures and sectoring in some regenerated plants. *Can J Genet Cytol* **24**:559-563
- Murashige T, Nakano R** (1967) Chromosome complement as a determinant of the morphogenic potential of tobacco cells. *Amer J Bot* **54**:963-970
- Murashige T, Skoog F** (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant* **15**:473-497
- Ono T** (1935) Chromosomen und sexualitat von *Rumex acetosa*. *Sci. Rep. Tohoku Imp Univ, Ser IV* **10**:41-210
- Parker JS, Wilby AS** (1989) Extreme chromosomal heterogeneity in a small-island population of *Rumex acetosa*. *Heredity* **62**:133-140
- Ramula KS, Dijkhuis P, Hanisch CH, De Groot B** (1985) Pattern of DNA and chromosome variation during *in vitro* growth in various genotype of potato. *Plant Science* **41**:69-78
- Woo JC, Choi DW, Yoo YM, Kim SG** (1990) Variation of chromosome number in Tobacco plants regenerated from protoplast transformation by *Agrobacterium tumefaciens*. *Korean J Genetics* **12**:26-32
- Zheng KL, Castiglione S, Biasini MG, Morandi C, Sala F** (1987) Nuclear DNA amplification in cultured cells of *Oryza sativa L.* *Theor Appl Genet* **74**:65-70

(접수일자 2001년 2월 9일)